

UNTERSUCHUNGEN ZUR INTESTINALEN
RESORPTION VON STIROCAINID AM
ISOLIERT DURCHSTRÖMTEN
DÜNNDARM DER RATTE IN VITRO

WERNER F. MADEI

1984

*Diss.
München*

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Medizinischen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof.Dr.W.Forth

UNTERSUCHUNGEN ZUR INTESTINALEN RESORPTION VON STIROCAINID
AM ISOLIERT DURCHSTRÖMTEN DÜNNDARM DER RATTE IN VITRO

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und dem Fachbereich Medizin der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Werner F. Madei
aus Ramerberg

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.W.Forth

Dekan : Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Dez. 1984

Meinen Eltern und meiner Frau

INHALT

Seite

1.	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	1
2.	EINLEITUNG	4
3.	ERGEBNISSE	5
3.1.	Zeitlicher Verlauf des Durchtritts durch die Darmwand und der Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe	5
3.1.1.	Transfer durch die Darmwand	5
3.1.2.	Gehalt im Gewebe	5
3.2.	Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration	5
3.3.	Transfer und Gehalt im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten	7
3.4.	Netto-Verschiebung von ^{14}C -Stirocainid im Konzentrationsgleichgewicht	10
3.5.	Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zur metabolischen Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid während des Durchtritts durch das Mucosaepithel	13
3.6.	Einfluß von Stirocainid auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransport des Darmes (Jejunum, Ileum)	15
4.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	20
4.1.	Resorption und Verfügbarkeit für die Resorption	20
4.2.	Methodisch-kritische Anmerkungen	20
4.2.1.	Methode nach Wilson und Wiseman	21
4.2.2.	Methode nach Fisher und Parsons	22
4.3.	Prinzipien der Arzneistoffresorption	22
4.4.	Metabolische Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid	24

	<u>Seite</u>
4.5. Einfluß von Stirocainid auf die Wasser-, Elektrolyt- und Glucoseresorption	25
4.6. Bewertung der Resorption von ¹⁴ C-Stirocainid	26
5. MATERIAL UND METHODE	29
5.1. Material	29
5.1.1. Versuchstiere	29
5.1.2. Substanz	29
5.1.3. Reagenzien	30
5.2. Untersuchungsmethoden zur Resorption von ¹⁴ C- Stirocainid	30
5.2.1. Durchströmung isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons	30
5.2.1.1. Aufarbeitung der Darmsegmente	32
5.2.2. Inkubation isolierter, nicht durchbluteter Darm- segmente nach der Methode von Wilson und Wiseman	32
5.3. Analytische Methoden	34
5.3.1. Glucosebestimmung	34
5.3.2. Elektrolytbestimmung	34
5.3.3. Bestimmung der pH-Werte	34
5.3.4. Messung der ¹⁴ C-Aktivität	35
5.3.5. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen	35
5.3.6. Statistik	36
6. LITERATURVERZEICHNIS	37
7. TABELLEN	39



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548306_0089

1. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

- (a) Die intestinale Resorption von ^{14}C -markiertem 2-Benzyliden-1-(2-Diisopropyl-aminoethoxyiminol)-cycloheptan (mit anti-arrhythmischer Aktivität), im folgenden kurz Stirocainid genannt, wurde an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Dünndarmsegmenten, sowie an evertierten und nicht evertierten Dünndarmpräparaten der Ratte in vitro geprüft.
- (b) Der zeitliche Verlauf des Transfers durch die Darmwand (J_{ms}), sowie die Aufnahme von ^{14}C -Stirocainid ins Darmgewebe (TC_m) wurde an evertierten Jejunumsegmenten zwischen 2 und 120 min geprüft. Der Transfer von ^{14}C -Stirocainid durch die Darmwand stieg innerhalb der Versuchszeit nahezu linear an, während der Gehalt an ^{14}C -Stirocainid im Gewebe zunächst initial anstieg und von 90 min an gleich blieb.
- (c) Die Konzentrationsabhängigkeit des Transfers von ^{14}C -Stirocainid durch die Darmwand und des Gehalts im Gewebe wurde an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten von der Mucosa- zur Serosa-seite (J_{ms}) in einem Konzentrationsbereich von 10^{-7} - 10^{-4} mol/l untersucht. Dabei zeigte sich, daß in Abhängigkeit von der angebotenen ^{14}C -Stirocainid-Konzentration die ^{14}C -Radioaktivität im Resorbat und im Darmgewebe proportional anstieg. Bezogen auf die Angebotskonzentration pro Gramm Darmfeuchtgewicht, betrug der unidirektionale Transfer durch die Darmwand im Jejunum ca. 2% und im Ileum ca. 1%. Ebenfalls auf die Angebotskonzentration pro Gramm Darmfeuchtgewicht bezogen, schwankte der Gehalt im Darmgewebe im Jejunum zwischen 7,7% und 16% und im Ileum zwischen 7,9% und 13,2%.
- (d) Die Untersuchungen des Transfers durch die Darmwand und des Gehalts von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe an evertierten (J_{ms}) und nicht evertierten (J_{sm}) Jejunumsegmenten ergaben, daß keine deutliche Netto-Verschiebung von ^{14}C -Stirocainid beobachtet werden kann und daß die Akkumulation von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe sowohl von der Mucosa- als auch von der Serosaseite gleich groß ist.

- (e) Die Untersuchung der Netto-Verschiebung von ^{14}C -Stirocainid im Konzentrationsgleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten ergab nach 2 Stunden Inkubationszeit eine gegenüber der Ausgangskonzentration deutliche Anreicherung von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe.
- (f) Orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen zeigten, daß ^{14}C -Stirocainid beim Durchtritt durch die Darmwand, insbesondere am proximalen Jejunum, einer metabolischen Veränderung unterlag.
Im proximalen Jejunum nahm der Anteil des nativen ^{14}C -Stirocainid in der Perfusionsflüssigkeit auf 72% des Ausgangswertes ab, im Darmhomogenat waren nur noch 8.6% der ^{14}C -Radioaktivität des unveränderten Stirocainid und im Resorbat sogar nur noch 4% vorhanden.
- (g) Der Glucose-, Wasser- und Elektrolyttransport wurde am proximalen Jejunum durch Stirocainid nicht beeinflusst. Demgegenüber beobachtete man am terminalen Ileum eine Einschränkung des Glucosetransfers um ca. 80% gegenüber der Kontrollgruppe; der Wassertransport wurde im geprüften Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l nicht beeinträchtigt. In diesem Darmabschnitt war die K^{+} -Konzentration im Resorbat in Gegenwart von Stirocainid (10^{-6} - $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l) signifikant erhöht.
- (h) Aufgrund der Ergebnisse, die in vitro an isoliert durchströmten Darmsegmenten gewonnen wurden, kann für die Resorption von ^{14}C -Stirocainid in vivo am intakten Tier in gewissen Grenzen die Voraussage gemacht werden, daß eine ausreichende Resorptionsquote zu erwarten ist. Diese Vorhersage stützt sich auf die Akkumulation von ^{14}C -Stirocainid im Mucosagewebe, woraus auf die Penetrationsfähigkeit des Stirocainids durch biologische Membranen geschlossen werden kann. Im Bereich des Dünndarms, wo ein pH-Wert der luminalen Flüssigkeit von 6,8 - 7,0 herrscht, kann mit einem Anteil der nicht-dissoziierten und dementsprechend lipidlöslichen Base von 20 - 25% gerechnet werden.

Möglicherweise zeichnet sich Stirocainid durch einen hohen "first pass"-Effekt aus, der durch eine Verstoffwechslung der Substanz bereits im Mucosagewebe bedingt sein könnte.

Die Hemmwirkung von Stirocainid auf die Resorption von Glucose in den Abschnitten des Ileums braucht vorderhand keine größere Bedeutung zugeschrieben werden. Die Glucose-resorption ist in vivo schon im Jejunum vollständig. Die Hemmwirkung auf die Glucoseresorption, die in den in vitro-Untersuchungen nur auf die Ileumsegmente beschränkt ist, teilt Stirocainid mit Lidocain und wahrscheinlich mit anderen lokalanästhetisch wirksamen Verbindungen.

2. EINLEITUNG

Der Oximether Stirocainid (vgl. Abb.11, Seite 29) hat sich in verschiedenen Modellarrhythmien im Tierexperiment als wirksames Antiarrhythmikum erwiesen. Ehe Stirocainid klinisch geprüft wird, soll seine Resorbierbarkeit charakterisiert werden.

Diese Untersuchungen, die zunächst an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten von Ratten in vitro durchgeführt werden, sind nachfolgend zusammengestellt worden.

Zwei Methoden kamen zur Anwendung:

- 1) die evertierten und nicht evertierten Segmente des Dünndarms von Ratten in vitro nach Wilson und Wiseman (1) und
- 2) die isolierten, nicht durchbluteten, luminal durchströmten Darmsegmente von Ratten nach Fisher und Parsons (2) in der Modifikation von Rummel und Stupp (1960).

Mit der erstgenannten Methode läßt sich prüfen, ob Stirocainid einem vektorieell gerichteten Transfer durch die Darmwand unterliegt. An beiden Präparaten läßt sich die Nettoaufnahme ins Darmgewebe und der Durchtritt von Stirocainid durch das Mucosa-epithel bzw. sein Erscheinen in den sog. Resorbaten der Darmsegmente erfassen; im Hinblick auf die Bewertung der Resorbierbarkeit von Stirocainid kommt dem Gehalt im Gewebe eine besondere Bedeutung zu (Strugala et al., 20).

Im Resorbat der Darmsegmente bzw. im Homogenat der Mucosa läßt sich außerdem prüfen, in welchem Umfang Stirocainid beim Transfer bereits einer Verstoffwechslung unterworfen wird. Aufgrund dieser Untersuchungen lassen sich Aussagen über einen möglichen "first pass"-Effekt machen.

Infolge des hydrostatischen Druckes, mit dem die Durchströmung rezirkulierend luminal erfolgt, zeichnet sich das Präparat nach Fisher und Parsons durch eine vergleichsweise hohe Resorptionsrate für Wasser aus. Deshalb wird dieses Präparat zur Beantwortung der Frage benutzt, in welchem Umfang Stirocainid möglicherweise physiologische Resorptionsleistungen, d.h. die Resorption von Flüssigkeit und Elektrolyten bzw. die Resorption von Glucose, beeinträchtigen kann.

3. ERGEBNISSE

3.1. Zeitlicher Verlauf des Durchtritts durch die Darmwand und der Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe

Die Prüfung der zeitlichen Abhängigkeit des Durchtritts durch die Darmwand und des Gehalts im Darmgewebe wurde an evertierten Jejunumsegmenten gemäß der Methode von Wilson und Wiseman (1) vorgenommen. Hierzu wurde ^{14}C -Stirocainid in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l nur auf der Mucosaseite (J_{ms}) des Darmpräparates angeboten. Nach Versuchsende wurden Durchtritt und Gehalt durch Messung der ^{14}C -Radioaktivität bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 1 verzeichnet und in Abbildung 1 graphisch dargestellt. Dabei ist anzumerken, daß für jeden in der Abbildung wiedergegebenen Zeitpunkt ein eigener Versuch mit den Darmabschnitten verschiedener Tiere durchgeführt wurde.

3.1.1. Transfer durch die Darmwand

Wie aus Abbildung 1 zu entnehmen ist, steigt der Transfer der ^{14}C -Radioaktivität durch die Darmwand am proximalen Jejunum mit der Zeit innerhalb von 120 min nahezu linear an ($r = 0,89$). (Tab.I, Abb.1)

3.1.2. Gehalt im Gewebe

Verfolgt man gleichzeitig den Gehalt der ^{14}C -Radioaktivität im Jejunumgewebe, so zeigt sich, daß die ^{14}C -Radioaktivität im Gewebe initial rasch ansteigt und ab 90 min gleich bleibt. (Tab.I, Abb.1)

3.2. Transfer durch die Darmwand und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe in Abhängigkeit von der Konzentration

Der Transfer durch die Darmwand sowie der Gehalt von ^{14}C -Radioaktivität im Gewebe wurde bei Angebot steigender ^{14}C -Konzentrationen von 10^{-7} - 10^{-4} mol/l an isolierten, nicht durchbluteten

JEJUNUM

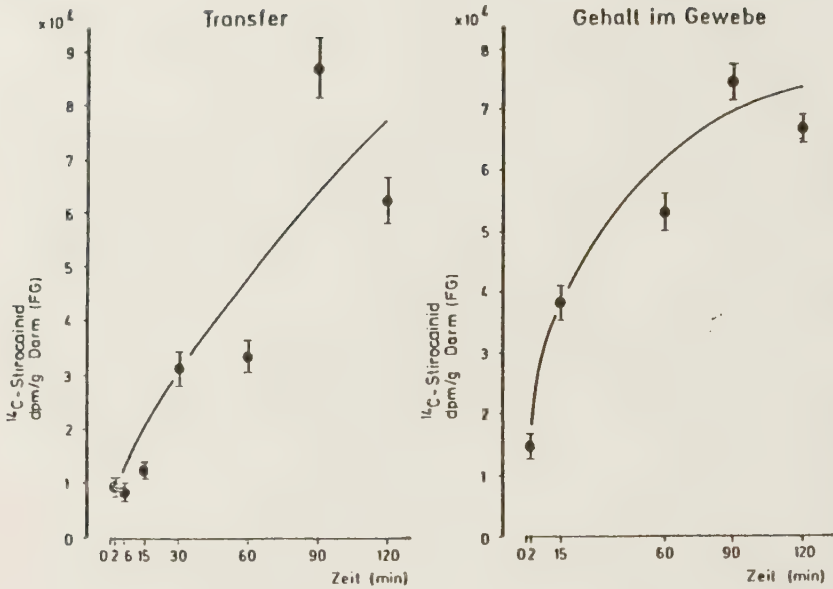


Abb. 1

Zeitlicher Verlauf des Durchtritts durch die Darmwand und der Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe (Jejunum).

Methode: Wilson und Wiseman (1); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C .

^{14}C -Stirocainid-Aktivität wurde in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l ($\approx 30\,000$ dpm/ml) zu Versuchsbeginn der Außenlösung zugegeben.

Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Stirocainid-Aktivität in der Serosaflüssigkeit sowie im Darmgewebe gemessen.

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 7 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S.Tab.I im Anhang)

Linke Ordinate: Transfer; transportierte Menge an ^{14}C -Stirocainid in dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: Gehalt im Gewebe; dpm/g Darmfeuchtgewicht

Abzisse: Zeit in Minuten

Jejunum- und Ileumsegmenten nach der Methode von Fisher und Parsons (2) geprüft.

^{14}C -Stirocainid wurde bei dieser Versuchsanordnung nur auf der Mucosaseite der Darmpräparate angeboten. Die Perfusionsdauer betrug 120 min, die Inkubationstemperatur war 37°C . Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle II zusammengefaßt und in Abbildung 2 und 3 graphisch dargestellt. Wie aus Abbildung 2 und 3 ersichtlich ist, nimmt mit steigenden ^{14}C -Stirocainid-Konzentrationen die ^{14}C -Radioaktivität sowohl im Resorbat als auch im Darmgewebe proportional zu. Aus beiden Abbildungen ist weiterhin zu entnehmen, daß die durch die Darmwand durchgetretene Menge an ^{14}C -Radioaktivität, die sich aus dem Produkt aus Konzentration und Resorbatvolumen errechnet, wie auch der Gehalt von ^{14}C -Radioaktivität im Gewebe in Prozent des Angebotes pro Gramm Darm an beiden geprüften Dünndarmabschnitten unabhängig von der angebotenen Konzentration verläuft.

Am Jejunum ist die transportierte Menge an ^{14}C -Stirocainid pro Gramm Darmfeuchtgewicht mit ca. 2% des Angebots etwa doppelt so hoch wie am terminalen Ileum. Der Gehalt an ^{14}C -Radioaktivität im proximalen Jejunum schwankt erheblich, nämlich auf 1 g Darmfeuchtgewicht bezogen zwischen 7,7 und 16% und im Ileum zwischen 7,9 und 13,2%.

In erster Näherung erscheint der Gehalt an ^{14}C -Radioaktivität in beiden geprüften Abschnitten des Dünndarmes etwa gleich groß.

3.3 Transfer und Gehalt im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten

Zur Klärung der Frage, ob bei Angebot von ^{14}C -Stirocainid eine bevorzugte Transportrichtung von ^{14}C -Radioaktivität von J_{ms} bzw. in umgekehrter Richtung von J_{sm} erkennbar ist, wurden evertierte (J_{ms}) und nicht evertierte (J_{sm}) Jejunumsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (1) eingesetzt (vgl. Abb. 4). Dabei wurde ^{14}C -Stirocainid in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l entweder nur auf der Mucosaseite (J_{ms}) oder nur auf der

JEJUNUM

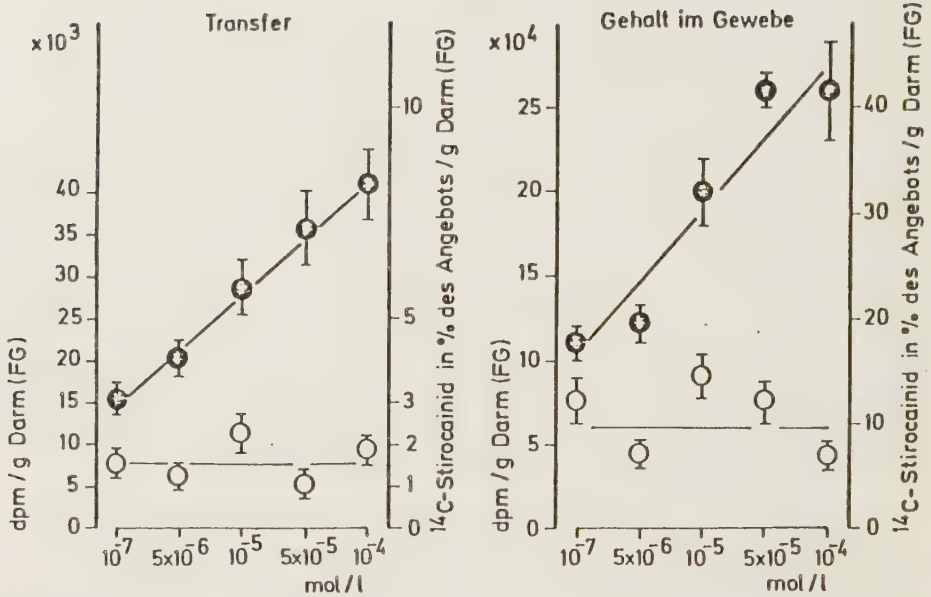


Abb. 2

Transfer und Gehalt im Gewebe von ^{14}C -Stirocainid an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3); Perfusionsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C .

^{14}C -Stirocainid-Aktivität wurde in einer Konzentration von 10^{-7} - 10^{-4} mol/l ($\approx 30\,000$ dpm/ml) zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung zugegeben.

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S. Tab.II im Anhang)

TRANSFER

Linke Ordinate: (●); dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: (○); dpm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes

Abszisse: ^{14}C -Stirocainid-Konzentration in mol/l

GEHALT IM GEWEBE

Linke Ordinate: (●); dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: (○); dpm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes

Abszisse: ^{14}C -Stirocainid-Konzentration in mol/l

ILEUM

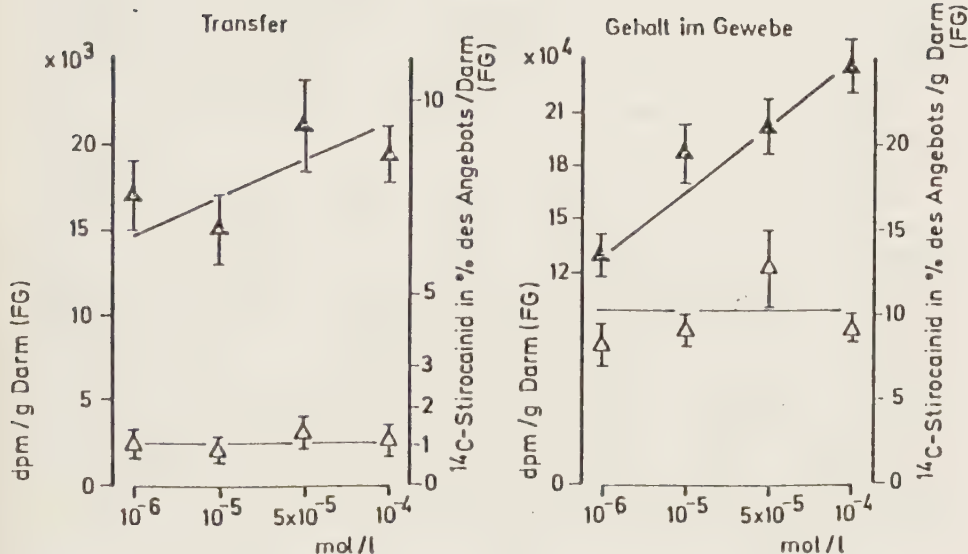


Abb. 3

Transfer und Gehalt im Gewebe von ¹⁴C-Stirocainid an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3); Perfusionsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

¹⁴C-Stirocainid-Aktivität wurde in einer Konzentration von 10⁻⁶ - 10⁻⁴ mol/l (≈ 30 000 dpm/ml) zu Versuchsbeginn der Perfusionslösung zugegeben.

Die Meßpunkte entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S. Tab. II im Anhang)

TRANSFER

Linke Ordinate: (▲); dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: (Δ); dpm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes

Abszisse: ¹⁴C-Stirocainid-Konzentration in mol/l

GEHALT IM GEWEBE

Linke Ordinate: (▲); dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: (Δ); dpm/g Darmfeuchtgewicht in Prozent des Angebotes

Abszisse: ¹⁴C-Stirocainid-Konzentration in mol/l

Serosaseite (J_{sm}) der Darmsäckchen angeboten und der Transport von ^{14}C -Radioaktivität zur jeweils anderen Seite bestimmt; außerdem wurde der Gehalt von ^{14}C -Radioaktivität im Gewebe gemessen (vgl. Abb.4, Seite 11). Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Tabelle III zusammengefaßt und in Abbildung 4 graphisch dargestellt.

Aus Abbildung 4 geht hervor, daß der Transfer von der Mucosa- zur Serosaseite etwa 1,2 mal höher ist als in der umgekehrten Richtung. Bildet man die Differenz von der J_{ms} bzw. J_{sm} transportierten Menge an ^{14}C -Radioaktivität, so ergibt sich rein rechnerisch ein geringer Nettotransport an ^{14}C -Stirocainid zur Serosaseite.

Vergleicht man den Gehalt an ^{14}C -Radioaktivität im Darmgewebe nach mucosalem bzw. serosalem Angebot, so zeigt sich, daß eine Akkumulation erfolgt. Pro Gramm Darmfeucht ist diese mit ca. 213 000 dpm und damit 70 % des Angebots sowohl von der Serosaseite als auch von der Mucosaseite gleich groß.

3.4. Netto-Verschiebung von ^{14}C -Stirocainid im Konzentrationsgleichgewicht

Zur direkten Bestimmung der ^{14}C -Stirocainid-Netto-Verschiebung im Konzentrationsgleichgewicht wurden äquimolare ^{14}C -Stirocainid-Konzentrationen (10^{-4} mol/l) zu Versuchsbeginn auf beiden Seiten der evertierten Darmsäckchen angeboten.

Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Radioaktivität auf der Mucosa- und Serosaseite sowie im Darmgewebe bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle IV zusammengefaßt und in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

Wie aus Abbildung 5 hervorgeht, verzeichnet man innerhalb von 120 Minuten Versuchszeit eine Anreicherung von ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe. Betrachtet man hingegen die ^{14}C -Stirocainid-Konzentration auf der mucosalen bzw. serosalen Seite des Darmpräparates, fällt auf, daß sich die Konzentration von ^{14}C -Stirocainid auf der Mucosaseite praktisch nicht ändert, während man auf der Serosaseite eine deutliche Abnahme bis zu 50% der Anfangskonzentration verzeichnet.

JEJUNUM

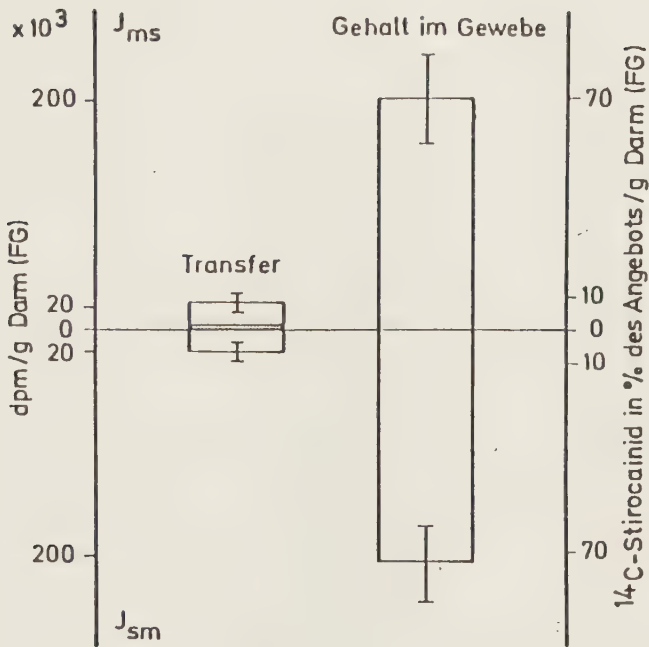


Abb. 4

Transfer und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Gewebe an evertierten und nicht evertierten Jejunumsegmenten.

Methode: Wilson und Wiseman (1); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C .

^{14}C -Stirocainid wurde in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l ($\approx 30\,000$ dpm/ml) entweder der Außenlösung (J_{ms}) oder der Innenlösung (J_{sm}) zugegeben.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 8 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. III im Anhang). Der schraffierte Anteil gibt den Netto-Transfer von ^{14}C -Stirocainid zur Serosaseite wieder.

Linke Ordinate: dpm/g Darmfeuchtgewicht

Rechte Ordinate: ^{14}C -Stirocainid in Prozent des Angebotes

JEJUNUM

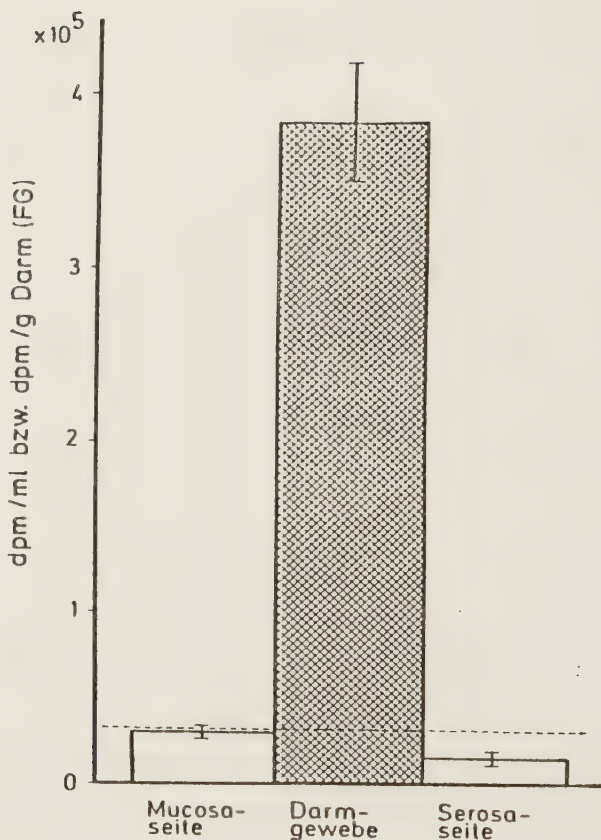


Abb. 5

Nettoverschiebung von ^{14}C -Stirocainid im Konzentrationsgleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten.

Methode: Wilson und Wiseman (1); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C .

^{14}C -Stirocainid-Aktivität wurde in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l ($\approx 30,000 \text{ dpm/ml}$) zu Beginn der Außen- und der Innenlösung zugegeben (gestrichelte Linie).

Am Versuchsende wurde die Radioaktivität pro ml Mucosa- bzw. Serosaflüssigkeit und die des Darmgewebes bestimmt.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 7 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S.Tab. IV im Anhang)

Ordinate: dpm/ml Inkubationsflüssigkeit bzw. dpm/g Darmfeuchtgewicht

Hierbei sollte man sich vergegenwärtigen, daß bei äquimolarem Angebot von ^{14}C -Stirocainid auf beiden Seiten des Darmpräparates die angebotene Menge an ^{14}C -Stirocainid auf der Serosaseite nur etwa 1/10 derjenigen auf der Mucosaseite ausmacht und zudem ein relativ hoher Verteilungskoeffizient von 10 - 20 (Octanol/Wasser) (4) für ^{14}C -Stirocainid existiert, der die Aufnahme von ^{14}C -Stirocainid ins Darmgewebe begünstigt.

Beide genannten Faktoren könnten somit die beobachtete Abnahme von ^{14}C -Stirocainid auf der Serosaseite plausibel erklären.

3.5. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen zur metabolischen Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid während des Durchtritts durch das Mucosaepithel

In Vorversuchen wurde das Fließmittelgemisch ermittelt, mit dem die Abtrennung der von ^{14}C -Stirocainid möglicherweise entstehenden Metaboliten abgeklärt werden kann. Stirocainid ist alkaliempfindlich; deshalb wurde ein saures Fließmittelgemisch verwendet (siehe Material und Methode, S.35).

Bei Verwendung des Fließmittelgemisches 3 zeigte sich, daß 91% der eingesetzten ^{14}C -Radioaktivität dem inaktiven Peak der Träger-substanz zugeordnet werden konnten, während ca. 7% der Aktivität reproduzierbar mit der Front liefen.

Wie aus Tabelle V und Abbildung 6 hervorgeht, steigt am proximalen Jejunum der Anteil de(s)r metabolischen Produkte(s) nach zweistündiger Inkubationszeit in Ultrafiltraten von Perfusat, Darmhomogenat und Resorbat an. In der Perfusionslösung sind 18%, im Darmhomogenat 59% und im Resorbat 75% der gesamten eingesetzten ^{14}C -Radioaktivität aus den Chromatogrammflächen des unveränderten Stoffes ^{14}C -Stirocainid verschwunden und in die Fläche der bislang noch nicht bekannten Metaboliten ausgewandert.

Mit Zunahme der(s) metabolischen Umwandlungsprodukte(s) sinkt der Anteil des unveränderten ^{14}C -Stirocainid in der Perfusionslösung auf 65,6%, im Darmhomogenat auf 7,8% und im Resorbat auf 3,7% ab.

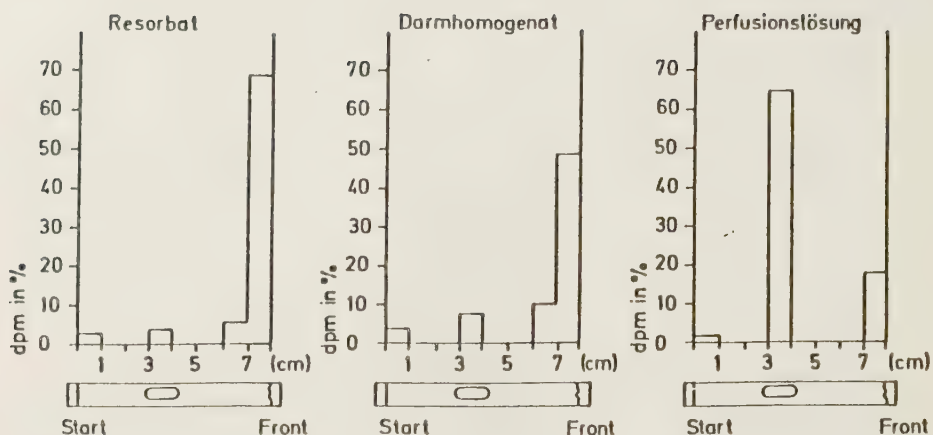


Abb. 6

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen von ^{14}C -Stirocainid im Resorbat, im Darmhomogenat und in der Perfusionslösung von isolierten, nicht durchbluteten Jejunumsegmenten von Ratten in vitro.

Fließmittelgemisch: Ethylacetat / Ethylmethylketon / Eisessig / Wasser (40 / 40 / 20 / 10)

^{14}C -Stirocainid-Konzentration: 10^{-4} mol/l

○ = inaktiver Reference-Peak (Stirocainid)

Die am proximalen Jejunum beobachteten metabolischen Umwandlungen von ^{14}C -Stirocainid traten am terminalen Ileum nicht auf. Wie aus Tabelle V hervorgeht, zeigt sich für das Ileum, daß die erhobenen Chromatogramme und zwar der Perfusionslösung, der der Darmhomogenate und des Resorbates mit dem Kontrollchromatogramm übereinstimmen, welches man erhält, wenn man ^{14}C -Stirocainid, bei 37°C zwei Stunden lang in begaster Tyrode inkubiert. In beiden Fällen verzeichnet man eine Zunahme des frontständigen Anteils der ^{14}C -Radioaktivität. Die metabolischen Umwandlungsprodukte sind nicht bekannt.

3.6. Der Einfluß von Stirocainid auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransport des Darmes (Jejunum, Ileum)

Zur Klärung der Frage, ob Stirocainid physiologische Transportprozesse des Darmes beeinflusst, wurde die Glucoseresorption sowie die Wasser- und Elektrolytbewegung gemessen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle VI und VII zusammengefaßt und in den Abbildungen 7,8 und 9 graphisch dargestellt.

Wie aus Abbildung 7 und 8 hervorgeht, hat Stirocainid am Jejunum in einem Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l keinen Einfluß auf die Wasser- und Elektrolytbewegung.

Auch die Glucoseresorption wird am Jejunum durch Stirocainid nicht beeinträchtigt. (Abb. 9)

Demgegenüber betrachtet man am terminalen Ileum in Gegenwart von Stirocainid bei allen drei geprüften Elektrolyten (Na^+ , K^+ und Ca^{2+}) einen Anstieg der Konzentrationen im Resorbat.

Während die Erhöhung von Na^+ und Ca^{2+} im geprüften Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l statistisch nicht signifikant ist, steigt die K^+ -Konzentration in einem Bereich von 10^{-6} - $5 \cdot 10^{-5}$ signifikant an. Erhöht man die Stirocainid-Konzentration auf 10^{-4} mol/l, so zeigt sich kein weiterer Abstieg der K^+ -Konzentration in der Serosaflüssigkeit, sondern ein Abfall auf Kontrollniveau (Abb.8).

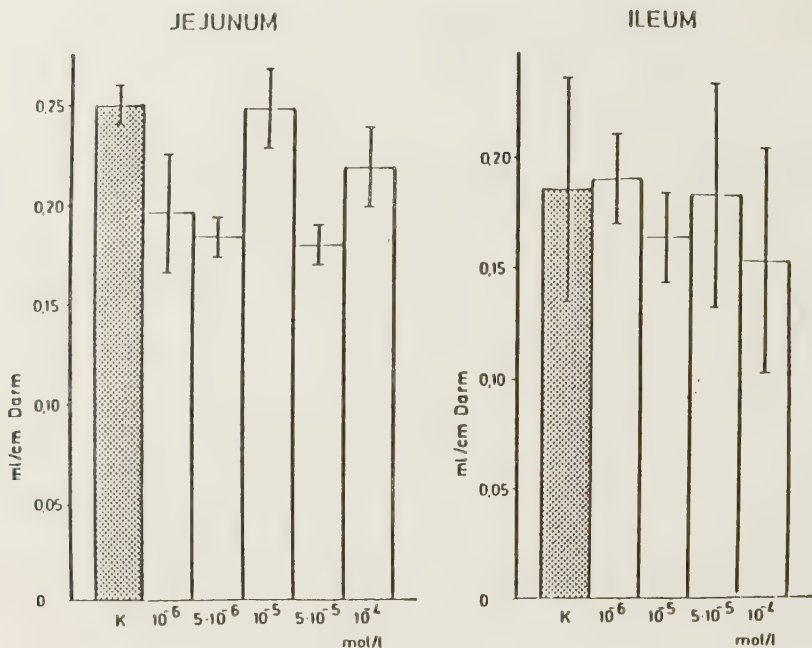


Abb. 7

Einfluß von Stirocainid auf den Flüssigkeitstransport an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum und Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$) (s. Tab. VI und VII im Anhang).

Ordinate: Resorbierte Flüssigkeitsmenge in ml/cm Darm

Abszisse: Stirocainid-Konzentration in mol/l

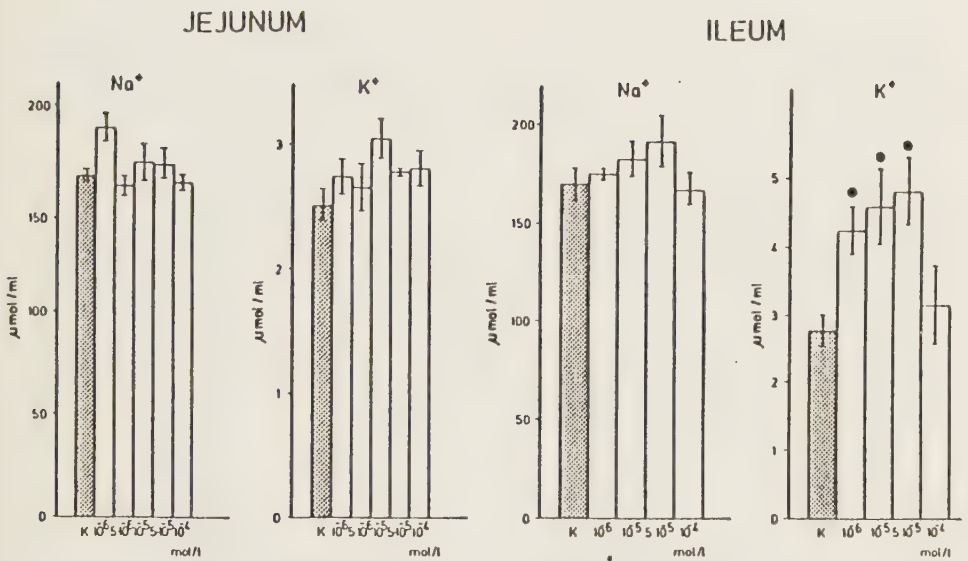


Abb. 8

Einfluß von Stirocainid auf den Elektrolyttransport an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S. Tab. VI und VII im Anhang)

Ordinate: Elektrolyt-Konzentration in $\mu\text{mol/ml}$

Abszisse: Stirocainid-Konzentrationen in mol/l

•: $p \leq 0,05$

In Abbildung 9 ist die transportierte Menge an Glucose in μMol pro cm Darm in Gegenwart von Stirocainid in einem Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l dargestellt.

Während unter Kontrollbedingungen etwa 1,4 μMol Glucose pro cm Darm zur Blutseite transportiert wird, beobachtet man in Gegenwart von Stirocainid eine Einschränkung des transmuralen Glucosetransfers von der Mucosa- zur Serosaseite um etwa 80%, die unabhängig von der Angebotskonzentration ist.

Dieser Hemmeffekt konnte am proximalen Jejunum nicht beobachtet werden.

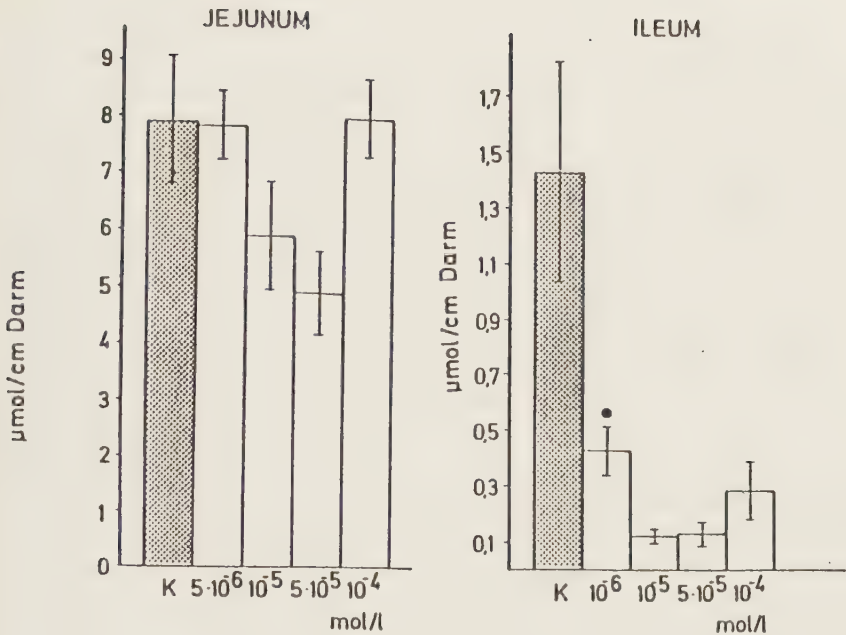


Abb. 9

Einfluß von Stirocainid auf die Glucoseresorption an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Ileumsegmenten in Abhängigkeit von der Konzentration.

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3); Versuchsdauer: 120 min; Temperatur: 37°C.

Die Glucosekonzentration der Perfusionslösung betrug 15,1 µmol/ml.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$). (S. Tab. VI und VII im Anhang)

Ordinate: Glucose-Transfer in µmol/cm Darm

Abzisse: Stirocainid-Konzentration in mol/l

●: $p \leq 0,05$

4. DISKUSSION

4.1. Resorption und Verfügbarkeit für die Resorption

Im allgemeinen werden Arzneistoffe in Form von Tabletten oder Dragees oral eingenommen. Die Phase des Zerfalls des Arzneistoffträgers sowie die Auflösungsgeschwindigkeit der Arzneistoffpartikel im wäßrigen Milieu des Gastrointestinaltraktes wird als biologische Verfügbarkeit (bioavailability) eines Arzneistoffes für die Resorption bezeichnet. Davon abzugrenzen ist der eigentliche Resorptionsvorgang (absorption), d.h. der Durchtritt eines Arzneistoffes durch das Mucosaepithel ins Blut. Unter bestimmten experimentellen Bedingungen können beide Vorgänge, Verfügbarkeit und Resorption, getrennt voneinander untersucht werden. Dies setzt jedoch voraus, daß diejenigen Parameter, die die Verfügbarkeit eines Arzneistoffes bestimmen, konstant gehalten werden. Daher wurde in den vorgelegten Untersuchungen zur Prüfung der Resorption von ^{14}C -Stirocainid der zu untersuchende Arzneistoff in gelöster Form an die Schleimhaut des isoliert durchströmten und nicht durchbluteten Dünndarmes in vitro herangebracht. Unter den Versuchsbedingungen war kein störender Darminhalt präsent und die angebotenen Konzentrationen von ^{14}C -Stirocainid blieben über den ganzen Versuchsverlauf nahezu konstant.

4.2. Methodisch-kritische Anmerkungen

Die Untersuchungen zur intestinalen Resorption von ^{14}C -Stirocainid wurden in vitro, an isolierten, nicht durchbluteten Dünndarmsegmenten der Ratte nach den Methoden von Wilson und Wiseman (1) bzw. Fisher und Parsons (2) durchgeführt. Zum besseren Verständnis der Resultate und deren Bewertung ist zunächst eine methodisch kritische Betrachtung der hier verwendeten Untersuchungsmethoden angezeigt.

4.2.1 Methode nach Wilson und Wiseman

Zum Studium des Durchtritts von ^{14}C -Stirocainid durch die Darmwand in Richtung der Resorption (J_{ms}) wurden evertierte Darmsegmente eingesetzt. Nicht evertierte Darmsäckchen dienten der Überprüfung der Bewegung von ^{14}C -Stirocainid in Richtung der Sekretion (J_{sm}). In demselben Experiment wurde gleichzeitig auch der Gehalt an ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe (TC_m bzw. TC_s) bestimmt. Durch diese Versuchsanordnung ist es experimentell möglich, selbst geringe Konzentrationsveränderungen in der Innenlösung des Darmsäckchens zu erfassen.

Die Darmpräparate wurden in zwei verschiedenen Typen von Experimenten eingesetzt:

- a) Messung der unidirektionalen Nettobewegung von ^{14}C -Stirocainid mit initialem Konzentrationsgradienten.

Hierzu wurde ^{14}C -Stirocainid zu Versuchsbeginn entweder auf der Mucosa (J_{ms}) oder auf der Serosaseite (J_{sm}) der Darmsäckchen angeboten und der Transport von ^{14}C -Stirocainid durch die Darmwand auf die jeweils andere Seite sowie der Gehalt im Darmgewebe bestimmt. Aus der Differenz der beiden Fluxes (J_{ms} , J_{sm}) läßt sich eine Abschätzung des Nettotransfers (J_{net}) in die eine bzw. andere Richtung vornehmen.

- b) Messung der Nettobewegung von ^{14}C -Stirocainid ohne initialen Konzentrationsgradienten

Hierzu wurde ^{14}C -Stirocainid zu Versuchsbeginn in äquimolaren Konzentrationen auf beiden Seiten der evertierten Darmpräparate angeboten. Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Aktivität in der Mucosa- bzw. Serosaflüssigkeit sowie im Darmgewebe bestimmt. Die Aussagen der Resultate beider Versuchstypen ergänzen einander weitgehend.

4.2.2. Methode nach Fisher und Parsons

Isoliert durchströmte, nicht durchblutete Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3) zeichnen sich dadurch aus, daß sie, unterstützt durch den hydrostatischen Druck von 25 cm H₂O auf der Mucosa-seite, eine leicht meßbare Resorptionsleistung für Flüssigkeit zeigen. Am Jejunum wird in der Stunde etwa 1 ml/10 cm Darm resorbiert, während man am terminalen Ileum, dessen Oberfläche etwa die Hälfte derjenigen des Jejunums ausmacht (5) gerade die Hälfte registriert.

Vergiftet man die Darmpräparate mit Hemmstoffen des Zellstoffwechsels oder wird ihnen Sauerstoff bzw. ein energielieferndes Substrat entzogen, verringert sich die Resorptionsleistung für Flüssigkeit (6). Deshalb werden die nach dieser Methode isoliert durchströmten Darmsegmente immer dann eingesetzt, wenn mit dem Durchtritt eines Stoffes durch die Darmwand gleichzeitig die physiologischen Transportleistungen miterfaßt werden sollen. Außerdem eignen sich Darmpräparate auch gut für Untersuchungen der metabolischen Umwandlung eines Arzneistoffes während des Transfers durch die Darmwand, weil durch die verwendete Untersuchungsmethode hier die Beteiligung anderer Organe z.B. der Leber am Stoffwechsel ausgeschlossen werden kann.

4.3. Prinzipien der Arzneistoff-Resorption

Bei oraler Applikation eines Pharmakons haben, von gewissen Ausnahmen abgesehen - Mundhöhle, Magen, Colon und Rektum nur eine untergeordnete Bedeutung für die Resorption. Der Hauptort für die Resorption der meisten Arzneistoffe ist aufgrund seiner großen Oberfläche der Dünndarm. Dieser läßt sich zwar nach morphologischen Gesichtspunkten in Duodenum, Jejunum und Ileum unterteilen, doch bestehen aus qualitativer Sicht bezüglich der Resorption von Arzneistoffen durch "nicht-ionische Diffusion" nur geringe Unterschiede (7).

Die Frage nach dem Mechanismus der enteralen Resorption ist ein Teilaspekt des allgemeinen Problems des Stoffaustausches durch

zelluläre Membranen. Dieser Prozeß wird von der Schwierigkeit beherrscht, daß die Zellmembran als biologische Barriere zwei im Grunde gegensätzliche Funktionen zu erfüllen hat. Zur Sicherung der Konstanz des intrazellulären Milieus muß sie für Ionen und wasserlösliche Metaboliten möglichst impermeabel sein. Diese Forderung wird durch die Lipidnatur der Membran erfüllt. Zum anderen muß die Membran auch einen Austausch hydrophiler Stoffe zwischen intra- und extrazellulärem Raum ermöglichen. Diese Notwendigkeit wird durch wassergefüllte Poren (Kanäle) bzw. Anlage spezifischer Transportmechanismen in der Zellmembran erfüllt (Lipid-Poren-Hypothese). Auch das resorbierende Epithel des Gastrointestinaltraktes verhält sich ähnlich anderen biologischen Grenzflächen wie eine Lipidmembran (8, 9) mit darin eingelagerten 'wassergefüllten' Poren (10). Dabei macht der Porenanteil im Magendarmtrakt lediglich einen Bruchteil der gesamten resorbierenden Oberfläche aus. Der geringe Porenradius, der für den Dünndarm mit ca. 0,3 - 0,4 nm (11) angegeben wird, schließt zudem die Penetration der meisten physiologisch oder therapeutisch relevanten Substanzen von diesem Weg aus. Auch spielt der aktive Transport bei der Resorption von Pharmaka kaum eine Rolle und konnte bisher nur für solche Stoffe nachgewiesen werden, die zu physiologischen Transportprozessen, z.B. für Glucose oder Aminosäuren eine Affinität aufweisen. Mit anderen Worten heißt das, daß für die meisten Pharmaka nur die Permeation per diffusionem durch die Lipoidphase der Membran zur Verfügung steht. Dementsprechend ist die Lipoidlöslichkeit eines Stoffes im wesentlichen bestimmend für die Penetration durch biologische Membranen. Ein Maß für die Beurteilung dieser Löslichkeit ist der Verteilungskoeffizient eines Stoffes zwischen einer lipophilen, organischen Phase und Wasser. Da die meisten Pharmaka schwache organische Säuren, Basen oder auch beides sind, liegen sie, abhängig von der Wasserstoffionenkonzentration (pH-Wert) des Milieus und ihrer Dissoziationskonstanten (pK_a -Wert), entweder als neutrales lipophiles Molekül oder als geladenes hydrophiles Ion vor. Der Ionisationsgrad ist insofern von Bedeutung, als nur die undissoziierte Form eines schwachen Elektrolyten lipophil genug ist, um sich in einer Lipidphase zu lösen bzw. eine Biomembran zu durchqueren.

Für dieses Prinzip der Membranpassage eines Elektrolyten in seiner ungeladenen, nicht ionisierten Form wurde 1958 von Milne, Scribner und Crawford (12) der Begriff der 'non-ionic diffusion' geprägt. Brodie, Schanker und Hogben (13) konnten zeigen, daß auch zahlreiche Pharmaka diesen Gesetzmäßigkeiten gehorchen, die sich aus einer Theorie der non-ionic diffusion ableiten lassen.

4.4. Metabolische Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid

Um die Resorbierbarkeit von ^{14}C -Stirocainid abschätzen zu können, muß sichergestellt sein, ob und in welchem Umfang ^{14}C -Stirocainid in den Epithelzellen der Mucosa des Dünndarms metabolisch verändert wird. Um wiederum das Ausmaß einer metabolischen Veränderung von ^{14}C -Stirocainid während der Passage durch das Mucosaepithel abschätzen zu können, wurden dünnschichtchromatographische Untersuchungen des Perfusates, Resorbates sowie des Darmhomogenates durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß sich bei der Berechnung der insgesamt ins Gewebe aufgenommenen und durch die Darmwand getretenen ^{14}C -Radioaktivität, die auf unverändertes ^{14}C -Stirocainid entfällt, 0,86% für das Jejunum bzw. 0,83% des Angebots für das Ileum ergab (vgl. Tab. V). Der geringe Anteil des unveränderten ^{14}C -Stirocainid an der insgesamt gemessenen Radioaktivität ist zu einem auf die Verunreinigung des radioaktiv markierten ^{14}C -Stirocainid und der nicht markierten Verbindung sowie vor allem deren Umwandlung beim Kontakt mit biologischem Material zurückzuführen. Dabei kann aufgrund der vorliegenden Resultate nicht endgültig geklärt werden, ob es sich tatsächlich um eine metabolische Veränderung von ^{14}C -Stirocainid handelt, oder ob möglicherweise auch eine katalytische Beschleunigung einer spontan verlaufenden Reaktion stattfindet, die mitverantwortlich für die beobachtete Umwandlung des nativen ^{14}C -Stirocainid ist. Für eine metabolische Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid spricht die Tatsache, daß sie in distalen Ileumsegmenten weit weniger stark zu beobachten ist als am proximalen Jejunum. Die am Ileum erhobenen Chromatogramme aus den Ultrafiltraten der Perfusionslösung, Darmhomogenat und Resorbat stimmen mit demjenigen Kontrollchromatogramm überein, das man erhält, wenn ^{14}C -Stirocainid bei 37°C in begaster Tyrodelösung inkubiert wird.

Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben zu klären, inwieweit es sich bei der hier beobachteten Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid tatsächlich um eine stoffwechselabhängige Leistung des Darmgewebes handelt und ob die bei Mensch und Tier beobachteten antiarrhythmischen Wirkungen nur auf das veränderte Ausgangsprodukt oder auch auf Umwandlungsprodukte zurückzuführen ist. Hierzu müssen die möglichen Umwandlungsprodukte isoliert und auf ihre pharmakologische Wirksamkeit hin geprüft werden.

4.5. Einfluß von Stirocainid auf die Wasser-, Elektrolyt- und Glucoseresorption

Schließlich ist die Frage zu beantworten, ob Stirocainid die Resorption wichtiger physiologischer Substrate *in vitro*, an isolierten nicht durchbluteten Darmsegmenten beeinträchtigt. Deshalb wurde die Wasser- bzw. Elektrolyt- (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) und Glucose-Bewegung durch die Darmwand bestimmt.

Die Untersuchungen haben ergeben, daß am proximalen Jejunum der Wasser- und Elektrolyttransport sowie der Bergauftransport der Glucose in einem weiten Konzentrationsbereich von 10^{-6} - 10^{-4} mol/l Stirocainid nicht beeinträchtigt wird. Demgegenüber verzeichnet man am terminalen Ileum in Gegenwart von Stirocainid (10^{-6} - $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l) eine statistisch signifikante Erhöhung der K^+ -Konzentration in der Serosaflüssigkeit sowie eine drastische Einschränkung des Glucose-Transfers von der Mucosa- zur Serosaseite bis zu 80%. Ferner beobachtete man im gleichen Konzentrationsbereich einen leichten Anstieg der Natrium- und Kalzium-Resorption.

Die Ursache für diese beiden Effekte, d.h. Kalium-Konzentrations-Erhöhung und Hemmung des Glucose-Transfers, sind unklar. Die Frage, inwieweit die unter Punkt 3.5. näher beschriebene unterschiedliche metabolische Metabolisierung von Stirocainid im Jejunum bzw. Ileum verantwortlich für die ausschließlich am terminalen Ileum beobachteten Effekte sind, kann aufgrund der vorliegenden Befunde nicht geklärt werden.

Untersuchungen von Strugala et al. (14,15) an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Dünndarmsegmenten mit Lidocain, einem

Lokalanästhetikum, welches zwar keine Strukturähnlichkeit zu Stirocainid aufweist, dafür aber ein ähnliches pharmakologisches Wirkungsprofil besitzt, bestätigen die mit Stirocainid am Ileum beobachteten Befunde.

Aufgrund von Analysen mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) konnten die Autoren zeigen, daß sich das proximale Jejunum und das terminale Ileum offensichtlich nicht hinsichtlich ihrer Permeationscharakteristik für Lidocain bzw. der Fähigkeit unterscheiden, Lidocain ins Darmgewebe aufzunehmen. Auch konnte eine mögliche presystemische Transformation von Lidocain beim Durchtritt durch die Darmwand für den selektiven Hemmeffekt ausgeschlossen werden.

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegt noch keine rationale Deutung für die Hemmwirkung von Stirocainid bzw. Lidocain auf den Durchtritt von Glucose selektiv an Ileumsegmenten vor. Die Befunde sind möglicherweise in Zusammenhang mit der von Lacko et al. (16), an menschlichen Erythrozyten beschriebenen Hemmwirkung von Lokalanästhetika auf den Glucoseausgleichstransport zu sehen. Auch am Ileum wird Glucose von der Mucosa- zur Serosaseite nicht wie am Jejunum gegen einen chemischen Gradienten transportiert, sondern bestenfalls bis zum Konzentrationsausgleich. Sollten sich die vorliegenden Befunde auch für andere Lokalanästhetika bestätigen lassen, könnte diese Verbindungsklasse gewissermaßen als Werkzeug für die Differenzierung der Transporteinrichtungen für Glucose im Dünndarm benutzt werden.

4.6. Bewertung der Resorption von ^{14}C -Stirocainid

Geht man unter den unter Punkt 4.3. (S. 21-23) angeführten Gesetzmäßigkeiten aus, so kann man für ^{14}C -Stirocainid, einer schwachen Base mit pK_a von 8,1 (25°C) (4), erwarten, daß sie in pH-Bereichen oberhalb des pK_a -Wertes in nicht ionischer, lipoidlöslicher Form vorliegt (siehe Abb.10). Dies ist allenfalls im oberen Dünndarm der Fall; dort wird nach Übertritt des sauren Mageninhalts vor der Durchmischung im Duodenum zunächst noch ein pH-Wert von 4,8 - 8,2 gemessen. Im Jejunum pendelt sich dann der intraluminale pH-Wert zwischen 6,8 - 7,2 und im Ileum auf Werte zwischen 7,3 - 7,6 ein.

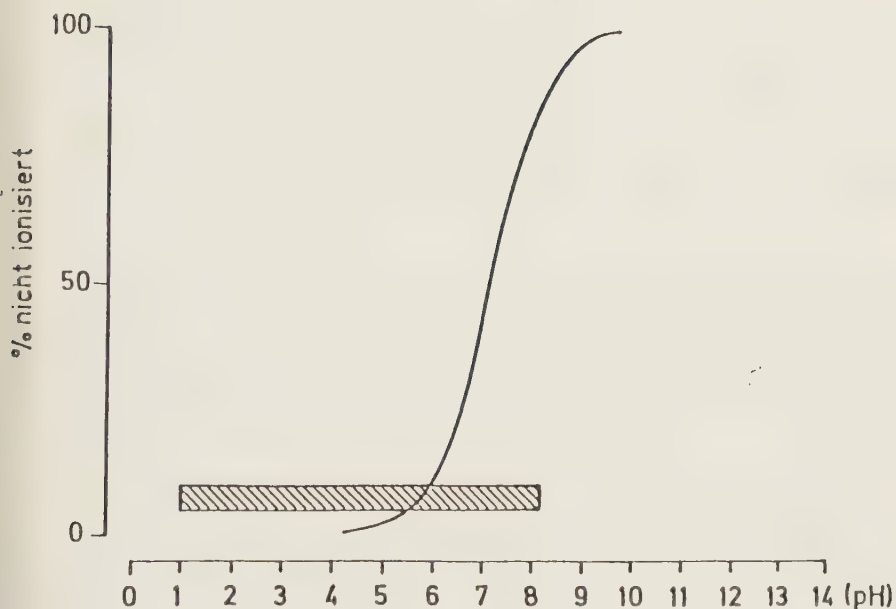


Abb. 10

Anteil an nicht ionisiertem ^{14}C -Stirocainid in wässrigen Lösungen in Abhängigkeit vom pH.

$\text{pK}_a = 8,1 \text{ (4)}$

Die Werte sind nach W.Forth interpoliert worden.

Der schraffierte Bereich überstreicht den pH-Bereich in Magen und Dünndarm.

Die vorliegenden Untersuchungen an isolierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten, haben ergeben, daß die durch die Darmwand getretene Menge an ^{14}C -Stirocainid nach Angebot von ^{14}C -Radioaktivität entsprechend der Erwartung für eine im Bereich physiologischer pH-Werte, wie sie im Dünndarm vorliegen, polaren, elektronegativen Ammoniumverbindung gering ist. Sie betrug pro Gramm Feuchtgewicht im proximalen Jejunum 2% bzw. im terminalen Ileum nur 1% des Angebots (Abb. 2,3).

Zur Beurteilung der Resorbierbarkeit eines Stoffes in vivo aufgrund von in vitro erhobenen Befunden, muß allerdings noch die im Darmgewebe akkumulierte Menge als potentiell resorbiert, d.h. in den Organismus inkorporiert, mit in die Überlegungen einbezogen werden. Dies geht aus systematischen Untersuchungen mit Herzglykosiden (17,18), Antineuralgika (19) und einem Choleretikum (20,21) hervor, die übereinstimmend belegen, daß die Anreicherung eines Arzneistoffes im Darmgewebe wichtiger Parameter für die Beurteilung der Resorption in vivo darstellt. Im Fall von ^{14}C -Stirocainid zeigte sich, daß in beiden geprüften Dünndarmabschnitten rund 10% der angebotenen ^{14}C -Radioaktivität pro Gramm Darmgewebe (Feuchtgewicht) akkumuliert wurden (Abb. 2,3). Damit und unter Berücksichtigung des Verteilungskoeffizienten von 10 - 20 (pH 7,0) (4), ließe sich die Vorhersage machen, daß in vivo am intakten Tier allenfalls eine ausreichende Resorptionsquote erwartet werden kann; eine vollständige Resorption einer einmal verabreichten Dosis ist nach den Ergebnissen in vitro nicht zu erwarten.

5. MATERIAL UND METHODE

5.1. Material

5.1.1. Versuchstiere

Weiblichen Sprague-Dawley-Ratten (200 - 280 g) der Firma Jautz, Kisslegg, BRD, wurde ca. 18 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter (Altromin Spezialfutterwerke GmbH, 4937 Lage) entzogen. Während dieser Zeit hatten die Versuchstiere freien Zugang zum Wasser.

5.1.2 Substanz

Bei der zu untersuchenden Verbindung handelt es sich um 2-Benzyliden-1-(2-Diisopropyl-aminoethoxyimino)-cycloheptan mit antiarrhythmischer Aktivität.

Diese Verbindung im folgenden kurz Stirocainid genannt, wurde von der Firma Dr. Thiemann GmbH, 4670 Lünen (Westfalen), in radioaktiver wie auch inaktiver Form zur Verfügung gestellt; MG 458,6 Dalton; spezifische Aktivität der ^{14}C -markierten Charge 16,22 mCi/g bzw. 7,43 mCi/mMol. Der pK_a -Wert beträgt 8,1; der Verteilungskoeffizient in Octanol/Wasser bei pH 7,0 liegt bei 10 - 20 (4).

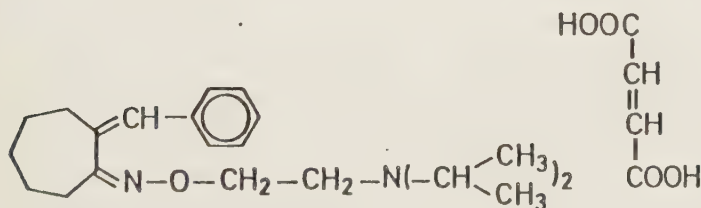


Abb. 11: Strukturformel von Stirocainid.

5.1.3. Reagenzien

Die bei den Versuchen verwendeten Reagenzien entsprachen p.a.-Qualität.

5.2. Untersuchungsmethoden zur Resorption von ^{14}C -Stirocainid

5.2.1. Durchströmung isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Fisher und Parsons

In Ethernarkose wurde den Versuchstieren das Abdomen eröffnet und von der Flexura duodenojejunalis nach distal das Jejunum sowie von der Valvula ileocoecalis nach proximal das Ileum in einer durchschnittlichen Länge von 10 cm frei präpariert und an beiden Enden der Darmsegmente Glasansatzröhrchen eingebunden.

Anschließend wurde mit ca. 20 ml körperlwarmer physiologischer Kochsalzlösung durchgespült und die Jejunum- und Ileumsegmente dicht an der Radix mesenterii abgetragen und in die Durchströmungsapparatur eingehängt. Die Durchströmung der präparierten Darmsegmente erfolgte nach der von Fisher und Parsons (2) entwickelten und von Rummel und Stupp (3) modifizierten Methode.

Dabei wurde das Darmlumen mit 50 ml Tyrodelösung folgender Zusammensetzung rezirkulierend durchströmt:

NaCl 8,0 g; KCl 0,2 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 0,1 g; NaHCO_3 1,0 g; NaH_2PO_4 0,05 g; Glucosemonohydrat 30,0 g/l.

Während der gesamten Versuchszeit wurde die Perfusionslösung mit einem Gasgemisch aus 95% O_2 und 5% CO_2 belüftet; die Perfusionsrate betrug 55 - 65 ml/min und der pH-Wert blieb im Bereich von 7,2 - 7,4 für den Zeitraum von 120 min konstant.

Die während der Inkubationszeit durch die Darmwand abtropfende Flüssigkeit (Resorbat) wurde aufgefangen und gesammelt.

Nach Versuchsende wurde die Länge und das Gewicht der Darmsegmente ermittelt, das Volumen des Resorbates gravimetrisch bestimmt und anschließend die ^{14}C -Aktivität sowie die Konzentration der Glucose und der Elektrolyte Na^+ , K^+ und Ca^{2+} gemessen.

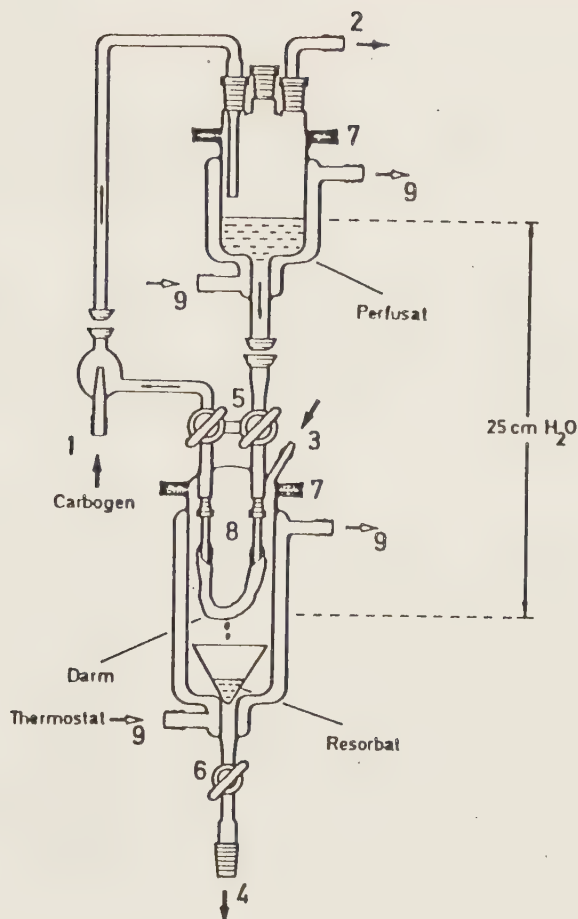


Abb. 12

Glasperfusator

- 1 : Zufuhr von Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) über Glasolive
- 2,3: Überleitung des Carbogens von der oberen Perfusionskammer (2) über einen Teflonschlauch (nicht eingezeichnet) in die untere Kammer (3).
- 4 : Ableitung des Carbogens aus der unteren Perfusionskammer in die Waschflaschen (nicht eingezeichnet)
- 5 : Dreiwegehähne aus Teflon
- 6 : Zweiwegehahn aus Teflon
- 7 : Planschliffverbindung zum Verschluß der Kammern
- 8 : Glaskanülen
- 9 : Die nicht ausgefüllten Pfeile kennzeichnen den Weg des thermostatisierten Wassers. Die Schlauchverbindungen sind nicht eingezeichnet.

5.2.1.1. Aufarbeitung der Darmsegmente

Nach Versuche wurde die Länge der Darmsegmente bestimmt. Anschließend wurden die Darmsegmente der Länge nach aufgeschnitten, mit isotinischer Kochsalzlösung gespült und durch Abtupfen auf Filterpapier sorgfältig von Schleim und Flüssigkeit gereinigt.

Sodann wurde das gesamte Darmsegment gewogen und ein ca. 0,1 g schweres Darmstückchen herausgeschnitten, mit 0,5 ml Quatbase (einer quarternären Ammoniumhydroxidlösung in Methanol) der Firma Riedel - de Haen, Seelze, versetzt und ca. 5 Stunden bei 60°C solubilisiert.

5.2.2. Inkubation isolierter, nicht durchbluteter Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman

Die Jejunumsegmente wurden in zwei verschiedenen Versuchsanordnungen eingesetzt:

- a) Als evertierte Darmsegmente nach der Methode von Wilson und Wiseman (1) zur Messung der Netto-Bewegung von ^{14}C -Stirocainid von der Mucosa- zur Serosaseite (J_{ms}), sowie zur Bestimmung der Gleichgewichtseinstellung nach beidseitigem Angebot von ^{14}C -Stirocainid auf der Mucosa- und Serosaseite.
(Abb. 13)
- b) Als nicht evertierte Darmsegmente zur Messung der ^{14}C -Stirocainid Nettobewegung von der Serosa- zur Mucosaseite (J_{sm}).
(Abb. 13)

Die Präparation der proximalen Jejunumsegmente erfolgte in Ethernarkose. Die entnommenen Jejunumsegmente (12 - 14 cm) wurden in eiskalter, mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2) gesättigter Tyrodelösung gespült. Anschließend auf einen PVC-Stab (3 mm Ø) aufgezogen und umgestülpt (evertiert), so daß sich das Mucosaepithel außen und das Serosaepithel innen befand. Sodann wurden die entnommenen Jejunumsegmente in zwei ca. 6 cm lange Darmstücke zerlegt, an einem Ende fest abgebunden und mit Raschig-Ringen

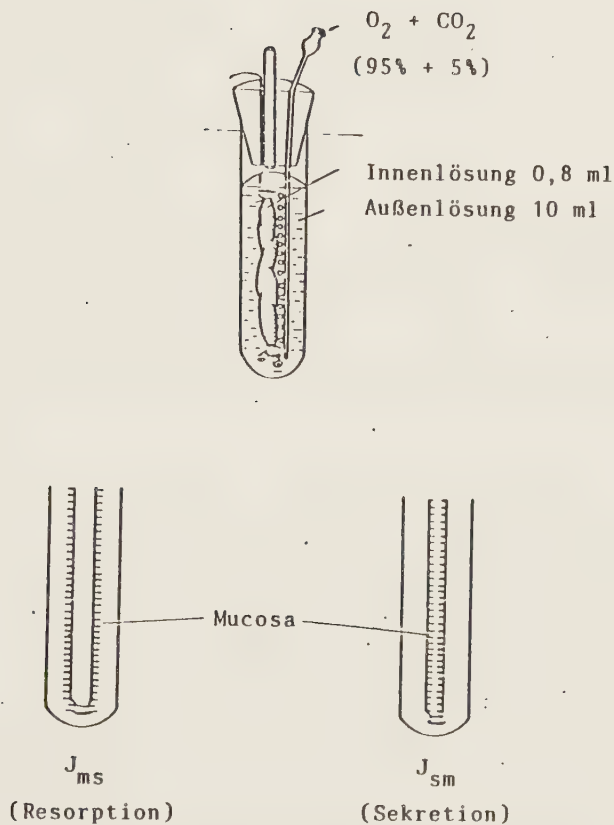


Abb. 13

Versuchsanordnung für evertierte und nicht evertierte Darmpräparate nach der Methode von Wilson und Wiseman (1) sowie schematische Darstellung der Transportrichtung.

(ca. 250 mg) beschwert, um den Auftrieb der Darmsegmente in der Inkubationslösung zu verhindern. Am anderen Ende wurde zunächst eine lockere Ligatur gelegt, 0,8 ml Inkubationsflüssigkeit (Innenlösung) injiziert und die Darmsäckchen in 10 ml begaster Tyrodelösung (Außenlösung) eingehängt. Die Länge der Darmsäckchen betrug durchschnittlich 5 cm. Entsprechend der jeweiligen Fragestellung wurde ^{14}C -Stirocainid nur in der Außenlösung oder gleichzeitig auf beiden Seiten des Darmpräparates angeboten.

Die Inkubationszeiten, die Temperatur sowie die ^{14}C -Stirocainid-Konzentrationen sind in graphischen Abbildungen und Tabellen wiedergegeben. Die Zusammensetzung der Tyrodelösung war identisch mit derjenigen, die auch bei den Fisher-Parsons-Versuchen eingesetzt wurde. Die Aufbearbeitung der Darmsäckchen erfolgte wie auf Seite 32 beschrieben.

5.3. ANALYTISCHE METHODEN

5.3.1 Glucosebestimmung

Glucose wurde enzymatisch mit Hilfe der Glucose-Oxydase (GOD), der Peroxydase (POD) sowie dem Chromogen ABTS(2',2'-Azino-(3-ethylbenzthiazolin-(6))-diammoniumsalz bestimmt. (Biochemica-Test-Combination, GOD-Perid, Methode der Firma Boehringer Mannheim).

Die photometrische Messung erfolgte mit dem Eppendorf Photometer 1101 M bei 578 nm und $d = 1 \text{ cm}$.

5.3.2. Elektrolytbestimmung

Die Messung der Elektrolyte Na^+ , K^+ und Ca^{2+} erfolgte simultan mit dem Eppendorf Flammenphotometer FCM 6341.

5.3.3. Bestimmung der pH-Werte

Die Bestimmung der pH-Werte wurde mit dem pH-Meter Digi 520 der Firma WTW, Weilheim vorgenommen.

Zum Eichen der Gaselektrode wurde Eichpuffer der Firma Merck, Darmstadt, benutzt. Die pH-Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

5.3.4. Messung der ^{14}C -Aktivität

Messungen der ^{14}C -Aktivität wurden mit einem Flüssigkeits-szintillationsspektrometer der Firma Packard Tri-Carb 3385 unter Verwendung eines Szintillationscocktails auf Dioxanbasis nach Bray (22) vorgenommen:

Naphthalin 60,0 g; 1,4-Di-2-(5-phenyloxazolyl)benzol 0,2 g; Diphenyloxazol 4,0 g; Methanol 100 ml; Ethylenglykol 20 ml; Dioxan 830 ml.

Jeweils 0,1 ml der zu messenden Probe wurde in Kunststoffbehälter der Firma Zinsser gegeben und mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt und anschließend im Szintillationsspektrometer gemessen.

Die Quenchkorrektur wurde mit Hilfe der 'Externen-Standard-Methode' vorgenommen.

5.3.5. Dünnschichtchromatographische Untersuchungen

Orientierende dünnschichtchromatographische Untersuchungen zur Prüfung einer möglichen metabolischen Umwandlung von ^{14}C -Stirocainid beim Durchtritt durch die Darmwand wurden mit drei verschiedenen Laufmitteln folgender Zusammensetzung durchgeführt:

(1)	Ethylacetat	85 ml
	Methanol	15 ml
	Ammoniak (25%)	10 ml
	pH: 11	Rf-Wert: 0,85
(2)	Toluol	20 ml
	Dioxan	50 ml
	Methanol	20 ml
	Ammoniak (25%)	10 ml
	pH: 12,5	Rf-Wert: 0,80
(3)	Ethylacetat	40 ml
	Ethylmethylketon	40 ml
	Eisessig	20 ml
	Wasser	10 ml
	pH: 3,0	Rf-Wert: 0,30

Nach Versuchsende wurden die Ultrafiltrate der Perfusionslösung, des Darmhomogenats sowie des Resorbats auf mögliche metabolische Umwandlungsprodukte hin dünnschichtchromatographisch analysiert. Die Darmsegmente wurden vor der Ultrafiltration mittels Ultra-Turrax in 5 ml Tyrodelösung zerkleinert und anschließend mit Hilfe von Amicon Centriflo CF-25-Filtern 20 Minuten bei 2000 U/Min (Christ-Zentrifuge) ultrafiltriert.

Die dünnschichtchromatographische Analyse erfolgte auf HPTLC-Fertigplatten (Kieselgel 60 F 254) mit Konzentrierungszone für Nano-DC (Merck, Darmstadt) bei Raumtemperatur und konnte durch UV-Absorption bei 254 nm sichtbar gemacht werden.

5.3.6. Statistik

Die in den Tabellen angegebenen Daten geben den Mittelwert ($\bar{x}$) aus n Einzelversuchen sowie den mittleren Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) an.

Für die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit p wurde der t-Test nach Student (23) herangezogen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. WILSON, T.H. und WISEMAN, G. (1954) The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. *J. Physiol.* 123: 116-125
2. FISHER, R.B. und PARSONS, D.S. (1949) A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption. *J. Physiol.* 110: 36-46
3. RUMMEL, W. und STUPP, H.F. (1960) Der Einfluß von Kalium und Calcium auf die Salz-, Glucose- und Wasserresorption des isolierten Dünndarmes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 240: 72-92
4. Persönliche Mitteilung von Dr. Hans-Jürgen Reiermann, Fa. Thiemann/Lünen (Westfalen)
5. PERMEZEL, N.C. und WEBLING, D. D.A. (1971) The length and mucosal surface area of the small and large gut in young rats. *J. Anat.* 108, 2: 295-296
6. PARSONS, D.S. (1967) Salt and water absorption by the intestinal tract. *Br. med. Bull.* 23 (3): 252-257
7. FORTH, W., RUMMEL, W. und HENSCHLER, D. (1980) Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich, S. 23, 37
8. OVERTON, E. (1902) Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 92: 115-280
9. COLLANDER, R. und BÄRLUND, H. (1933) Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla* II. Die Permeabilität für Nicht-elektrolyte, *Acta Bot. fenn.* 11: 1-14
10. HÖBER, R. und HÖBER, J. (1937) Experiments on the absorption of organic solutes in the small intestine of rats. *J. cell. comp. Physiol.* 10: 401-422
11. CSAKY, T.Z. (1975) Lipoidporenmembrane - Transfervorgänge "facilitated diffusion", aktiver Transport und Biochemie resorbierender Epithelien. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* 25: 464-469
12. MILNE, M.D., SCRIBNER, B.H. und CRAWFORD, M.A. (1958) Non-ionic diffusion and the excretion of weak acids and bases. *Amer. J. Med.* 24: 709
13. HOGGEN, C.A.M., TOCCO, D.J., BRODIE, B.B. und SCHANKER, L.S. (1959) On the mechanism of intestinal absorption of drugs. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 125: 275-282

14. STRUGALA, G., FASOL, H. und FORTH, W. (1983) Differential effect of local anesthetics on in vitro absorption of glucose in jejunal and ileum segments of rats. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 322 (R 6)
15. STRUGALA, G. und FORTH, W. (1984) Effect of lidocaine on in vitro absorption of glucose in jejunal and ileal segments. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 326: 283-285
16. LACKO, L., WITTKÉ, B. und LACKO, I. (1977) Interaction of local anesthetics with the transport system of glucose in human erythrocytes. J. Cell. Physiol. 92: 257-264
17. FORTH, W., FURUKAWA, E., RUMMEL, W. und ANDRES, H. (1969) Intestinale Resorption von Herzglykosiden in vitro und in vivo. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. exp. Path. 262: 53-72
18. FORTH, W., FURUKAWA, E. und RUMMEL, W. (1969) Vergleichende Untersuchung von Resorption und Ausscheidung 3H-markierter Herzglykoside. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 263: 206-208
19. SEEBALD, H. und FORTH, W. (1977) Absorption of ^{14}C -Bumadizone and -Phenylbutazone in isolated intestinal segments in vitro and tied-off gastrointestinal sections in vivo of rats and guinea pigs. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 27 (I), 3: 624-625
20. STRUGALA, G., OVERHOFF, H. und FORTH, W. (1981) Absorption of ^{14}C -Clanobutin-Na in isolated perfused intestinal segments of rats in vitro. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 31 (I), 3: 429-433
21. OVERHOFF, H., STRUGALA, G. und FORTH, W. (1981) Absorption of ^{14}C -Clanobutin-Na in blood-perfused tied-off jejunal-segments in vivo of rats. Arzneim.-Forsch./Drug Res. 31 (I), 4: 670-674
22. BRAY, J. A. (1960) A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. Analytic Biochem. 1: 279-285
23. WEBER, E. (1972) Grundriß der biologischen Statistik, 7. Auflage, Gustav-Fischer Verlag, Stuttgart

7. TABELLEN

Tabelle I

Transfer und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid im Gewebe an evertierten Jejunumsegmenten - Zeitabhängigkeit
Methode: Wilson und Wiseman (1) - Temperatur 37°C

^{14}C -Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung (J_{ms}) ($\approx 30\,000\text{ dpm/ml}$) zugegeben. Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Aktivität im Resorbat und im Darmhomogenat bestimmt.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$).

Evertiertes Jejunum (J_{ms} , TC_m)

Inkubationszeit (min)	Volumen der Serosa-flüssigkeit (ml)	Darmgewicht (g)	Glucose-Konz. in der Serosa-flüssigkeit ($\mu\text{mol/l}$)	^{14}C -Menge in der Serosa-flüssigkeit (dpm/g FG)	Gehalt an ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe (dpm/g FG)
2	$0,63 \pm 0,02$	$0,21 \pm 0,01$	$11,28 \pm 0,16$	$9\,335 \pm 756$	$14\,956 \pm 1\,758$
6	$0,73 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,01$	$12,46 \pm 0,11$	$8\,621 \pm 880$	---
15	$0,70 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,01$	$12,24 \pm 0,37$	$12\,777 \pm 1\,137$	$38\,301 \pm 2\,515$
30	$0,88 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,03$	$14,77 \pm 0,28$	$31\,432 \pm 2\,525$	---
60	$0,68 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,01$	$13,34 \pm 0,40$	$33\,381 \pm 1\,843$	$52\,956 \pm 2\,988$
90	$0,71 \pm 0,01$	$0,23 \pm 0,01$	$19,45 \pm 0,49$	$86\,761 \pm 5\,168$	$74\,264 \pm 2\,989$
120	$0,71 \pm 0,02$	$0,36 \pm 0,03$	$23,85 \pm 0,73$	$62\,030 \pm 4\,587$	$66\,817 \pm 2\,193$

Transfer und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten - Konzentrationsabhängigkeit
Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert nach Rummel und Stupp (3)
Perfusionsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C

^{14}C -Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außenlösung (J_{ms}) ($\approx 30\,000$ dpm/ml) zugegeben. Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Aktivität im Resorbat und im Darmgewebe bestimmt.
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5-6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$).

^{14}C -Stirocainid Konzentration (mol/l)	Volumen der Serosa-flüssigkeit (ml)	Darmgewicht (g)	Glucose-Konz. in der Serosa-flüssigkeit ($\mu\text{mol/l}$)	^{14}C -Menge in der Serosaflüssigkeit (dpm/g FG)	(%)	Gehalt an Stirocainid im Darmgewebe (dpm/g FG)	(%)
JEJUNUM							
10^{-7}	2,16 $\pm 0,15$	1,40 $\pm 0,20$	30,47 $\pm 2,62$	15 212 $\pm 1\,821$	1,70 $\pm 0,30$	111 216 $\pm 8\,533$	14,00 $\pm 1,58$
$5 \cdot 10^{-6}$	2,29 $\pm 0,25$	1,26 $\pm 0,16$	42,76 $\pm 1,58$	20 188 $\pm 2\,409$	1,30 $\pm 0,20$	117 000 $\pm 9\,077$	7,70 $\pm 0,48$
10^{-5}	2,85 $\pm 0,28$	1,31 $\pm 0,15$	22,92 $\pm 2,69$	28 989 $\pm 3\,424$	2,30 $\pm 0,44$	204 966 $\pm 16\,965$	16,60 $\pm 2,30$
$5 \cdot 10^{-5}$	2,84 $\pm 0,42$	1,57 $\pm 0,15$	27,06 $\pm 3,00$	35 824 $\pm 3\,977$	0,95 $\pm 0,06$	266 633 $\pm 4\,868$	13,50 $\pm 2,00$
10^{-4}	2,49 $\pm 0,22$	1,24 $\pm 0,18$	37,04 $\pm 1,10$	40 341 $\pm 5\,038$	1,90 $\pm 0,10$	264 488 $\pm 32\,034$	7,70 $\pm 0,48$
ILEUM							
10^{-6}	2,35 $\pm 0,21$	1,48 $\pm 0,17$	2,71 $\pm 0,23$	17 462 $\pm 2\,844$	1,10 $\pm 0,12$	127 981 $\pm 16\,188$	7,90 $\pm 0,90$
10^{-5}	2,54 $\pm 0,35$	1,84 $\pm 0,24$	4,22 $\pm 0,92$	15 004 $\pm 2\,671$	1,00 $\pm 0,20$	186 717 $\pm 19\,432$	8,50 $\pm 0,80$
$5 \cdot 10^{-5}$	2,23 $\pm 0,48$	1,23 $\pm 0,09$	3,73 $\pm 0,86$	20 827 $\pm 4\,839$	1,40 $\pm 0,30$	203 538 $\pm 17\,751$	13,20 $\pm 2,10$
10^{-4}	1,65 $\pm 0,27$	0,92 $\pm 0,12$	1,91 $\pm 0,51$	19 011 $\pm 2\,910$	1,20 $\pm 0,30$	234 489 $\pm 12\,310$	8,40 $\pm 0,50$

Tabelle III

Transfer und Gehalt von ^{14}C -Stirocainid an evertierten und nicht-evertierten Jejunumsegmenten
Methode: Wilson und Wiseman (1) - Versuchsdauer: 120 min - Temperatur: 37°C

^{14}C -Aktivität wurde zu Versuchsbeginn entweder der Außenlösung (J_{ms}) oder der Innenlösung (J_{sm})
($\approx 30\,000\text{ dpm/l}$) zugegeben.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 8 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$).

^{14}C -Stirocainid Konzentration (mol/l)	Volumen der Serosa- flüssigkeit (ml)	Darmgewicht (g)	Glucose-Konz. in der Serosa- flüssigkeit ($\mu\text{mol/l}$)	^{14}C -Menge in der Serosaflüssigkeit (dpm/g FG) (%)	Gehalt an ^{14}C - Stirocainid im Darmgewebe (dpm/g FG) (%)
J_{ms} (evertiertes Jejunum)					
10^{-4}	0,55 $\pm 0,03$	0,34 $\pm 0,01$	20,37 $\pm 0,77$	25 241 $\pm 2\,105$	213 267 $\pm 33\,085$
				8,20 $\pm 0,47$	69,40 $\pm 17,90$
J_{sm} (nichtevertiertes Jejunum)					
10^{-4}	0,29 $\pm 0,01$	0,34 $\pm 0,09$	---	19 938 $\pm 5\,496$	213 527 $\pm 39\,001$
				6,80 $\pm 0,21$	73,20 $\pm 17,90$

Tabelle IV

Netto-Verschiebung von ^{14}C -Stirocainid im Konzentrationsgleichgewicht an evertierten Jejunumsegmenten
Methode: Wilson und Wiseman (1) - Versuchsdauer 120 min - Temperatur: 37°C

^{14}C -Aktivität wurde zu Versuchsbeginn der Außen- und Innenlösung ($\pm 30\,000\text{ dpm/ml}$) zugegeben. Am Versuchsende wurde die ^{14}C -Aktivität in der Serosa- und der Mucosaflüssigkeit und im Darmgewebe gemessen.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$).

Volumen der Serosaflüssigkeit (ml)	Darmgewicht (g)	^{14}C -Stirocainid-Konzentration (Serosaflüssigkeit) (dpm/ml)	^{14}C -Stirocainid-Konzentration (Mucosaflüssigkeit) (dpm/ml)	Gehalt an ^{14}C -Stirocainid im Darmgewebe (dpm/g)
0,71	0,20	14 719	30 028	382 055
$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	± 818	± 434	$\pm 34\,790$

Tabelle V

Dünnschichtchromatographische Untersuchung zur metabolischen Umwandlung von ^{14}C -Stiroidcainid während des Durchtritts durch die Darmwand an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten

Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3)

Perfusionsdauer: 120 min, Temperatur: 37°C

^{14}C -Stiroidcainid wurde zu Versuchsbeginn in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l zugegeben. Die Werte geben den prozentualen Anteil an ^{14}C -Radioaktivität in den verschiedenen Arealen auf der HPTLC-Platte wieder. (Gesamtradioaktivität auf der DC-Platte = 100 %).

Zusammensetzung der Laufmittel (1) - (3) s. Material und Methode.

Areal auf der HPTLC-Platte	R e f e r e n c e		^{14}C -Stiroidcainid begaste Tyrode- lösung (37°C , 120 min)		J e j u n u m		I l e u m	
	(1)	Laufmittel (2)	(3)		Perf.	Darmg.	Perf.	Darmg.
^{14}C -Stiroidcainid	41,8	50,4	90,6	70,2	65,6	7,8	3,7	86,9
Metabolit(e)	---	---	6,7	15,5	18,3	58,8	75,3	7,8
Auftragssort	22,6	36,4	0,04	0,9	2,0	3,7	2,9	0,1
								1,2
								1,5
								72,0
								13,3
								15,6
								1,5

Perf. = Perfusionslösung, Darmg. = Darmgewebe, Res. = Resorbat.

Einfluß von Stirocainid auf die Resorption von Wasser, Glucose und Elektrolyte an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejenum- und Ileumsegmenten
 Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3)
 Perfusionsdauer: 120 min - Temperatur 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5 - 6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$)

JEJUNUM

Konzentration (mol/l)	Wasser- resorption (ml/cm)	Glucose- resorption (μ mol/cm)	Na ⁺ -Konz. in der Serosafl. (μ val/ml)	K ⁺ -Konz. in der Serosafl. (μ val/ml)	Ca ²⁺ -Konz. in der Serosafl. (μ val/ml)
Kontrolle	0,250 $\pm$ 0,010	7,82 $\pm$ 1,12	165,00 $\pm$ 2,46	2,50 $\pm$ 0,13	0,70 $\pm$ 0,07
10 ⁻⁶	0,195 $\pm$ 0,030	---	188,00 $\pm$ 6,60	2,72 $\pm$ 0,14	0,70 $\pm$ 0,18
5 $\cdot$ 10 ⁻⁶	0,182 $\pm$ 0,010	7,73 $\pm$ 0,60	160,00 $\pm$ 4,44	2,64 $\pm$ 0,19	0,79 $\pm$ 0,03
10 ⁻⁵	0,247 $\pm$ 0,020	5,81 $\pm$ 0,94	171,00 $\pm$ 8,47	3,04 $\pm$ 0,15	1,28 $\pm$ 0,19
5 $\cdot$ 10 ⁻⁵	0,179 0,010	4,80 0,73	170,00 6,60	2,76 0,03	0,81 0,21
10 ⁻⁴	0,218 $\pm$ 0,020	7,90 $\pm$ 0,70	162,00 $\pm$ 3,53	2,80 $\pm$ 0,14	1,06 $\pm$ 0,07

Tabelle VII

Einfluß von Stirocainid auf die Resorption von Wasser, Glucose und Elektrolyte an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten
 Methode: Fisher und Parsons (2), modifiziert durch Rummel und Stupp (3)
 Perfusionsdauer: 120 min - Temperatur 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5-6 Einzelversuchen ($\bar{x}$, $\pm s_{\bar{x}}$)

ILEUM

Konzentration (mol/l)	Wasser- resorption (ml/cm)	Glucose- resorption ($\mu\text{mol/cm}$)	Na ⁺ -Konz. in der Serosafl. ($\mu\text{val/ml}$)	K ⁺ -Konz. in der Serosafl. ($\mu\text{val/ml}$)	Ca ²⁺ -Konz. in der Serosafl. ($\mu\text{val/ml}$)
Kontrolle	0,185 $\pm$ 0,050	1,42 $\pm$ 0,39	171,00 $\pm$ 8,00	2,76 $\pm$ 0,24	1,90 $\pm$ 0,21
10 ⁻⁶	0,189 $\pm$ 0,020	0,43 $\pm$ 0,08	176,00 $\pm$ 3,30	4,23 $\pm$ 0,34	2,20 $\pm$ 0,21
10 ⁻⁵	0,162 $\pm$ 0,020	0,12 $\pm$ 0,02	184,00 $\pm$ 9,40	4,56 $\pm$ 0,55	2,20 $\pm$ 0,21
5 · 10 ⁻⁵	0,181 $\pm$ 0,050	0,13 $\pm$ 0,05	193,00 $\pm$ 12,90	4,80 $\pm$ 0,49	2,70 $\pm$ 0,48
10 ⁻⁴	0,153 $\pm$ 0,050	0,29 $\pm$ 0,10	168,00 $\pm$ 8,70	3,13 $\pm$ 0,58	1,88 $\pm$ 0,27

Abschließend möchte ich Herrn Professor Dr. W.Forth für die Überlassung des Themas danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. G.Strugala für seine freundliche Unterstützung und seinen wertvollen Rat bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn E.Wnendt danke ich für die Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

LEBENS LAUF

Geboren: 20.7.1954 in Würzburg/Bayern

Eltern: Werner Madei, Polizeibeamter
Anna Maria Madei, geb. Kreisl

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: verheiratet, drei Kinder

Schul Ausbildung: Pleicher-Volksschule, Würzburg/Bayern
September 1960 - Juli 1964
Röntgen-Gymnasium, Würzburg/Bayern
September 1964 - Juli 1973

Bundeswehr: Eintritt in die Laufbahn der Reserve-
offiziere und Entlassung als Leutnant
der Reserve, Tauberbischofsheim/Bayern
Oktober 1973 - Oktober 1975

Kirche: Ehrenamtliche Tätigkeit für die Kirche
Jesu Christi der Heiligen der Letzten Tage,
Düsseldorf/Nordrhein Westfalen
Oktober 1975 - Oktober 1977

Studium: Ludwig-Maximilians-Universität München
Medizinische Fakultät
SS 1978 - Oktober 1984
Staatsexamen: Oktober 1984 in München

Approbation: 1984

